HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

FOLHETO INFORMATIVO INTERNACIONAL PARA O TESTE COM OPTIGEN®

CE Para uso diagnóstico *in vitro*

Doc.No. 0649-POR
Rev.: 04
Data de revisão: 10/13

1 *Uso Pretendido*

O ensaio **OPTIGEN** é um teste *"in vitro"* para uso na determinação semiquantitativa das concentrações de IgEs específicas para determinados alergenos no soro humano. Destina-se a apoiar o diagnóstico clínico de perturbações alérgicas mediadas por IgEs, conjuntamente com a avaliação clínica efectuada. O dispositivo foi concebido para ser utilizado em laboratórios de análises clínicas.

2 *Resumo e Explicação do Teste*

A Imunoglobulina E é uma classe distinta de anticorpos séricos mediadores das reações de hipersensibilidade de tipo 1, também conhecidas como alergia atópica. Os linfócitos B imunocompetentes, quando estimulados por um antigénio (alergeno), produzem anticorpos IgE específicos contra os alergenos, que se combinam com os recetores de superfície dos mastócitos e dos leucócitos basófilos.

Se o mesmo alergeno é reintroduzido para o sistema por via inalatória, por ingestão ou por contacto dérmico, liga-se a esses anticorpos IgE já ligados às células. Isto ativa a desgranulação das células e a libertação de aminas vasoativas para os tecidos circundantes. As aminas vasoativas, como a histamina, são responsáveis pela contração do músculo liso dos brônquios, prurido cutâneo, inchaço local, e perda dos fluidos extracelulares através das barreiras mucosas, que caracterizam as reações de hipersensibilidade de tipo 1.

As manifestações clínicas mais comuns das reações de hipersensibilidade de tipo 1 incluem sinusite, asma, dermatite, urticária e, em casos mais raros, choque anafilático.

O doseamento do nível de IgE específica do alergeno do doente, em conjunto com a avaliação clínica, é valioso para o médico na confirmação do diagnóstico e tratamento da alergia atópica.

3 *Princípio do Procedimento*

O ensaio OPTIGEN utiliza um pequeno dispositivo plástico conhecido como Pette (placa com poços ou como câmara para testes). Este dispositivo permite a exposição simultânea do soro dos pacientes com vários alergenos ou misturas de alergenos. A pette é constituída por uma fase-sólida de poliestireno e de pequenas lentes integradas, e também um controlo negativo (branco) e um controlo positivo do procedimento.

O ensaio OPTIGEN pode ser realizado manualmente ou com o processador semiautomático AP 720S™.

O ensaio é executado fazendo uma lavagem à pette seguida do do enchimento dos poços da pette com as amostras de soro dos doentes. Durante a incubação, a IgE sérica liga-se ao alergeno que reveste os poços. Depois da incubação a pette é lavada com a solução tamponada, para remover componentes do soro que não foram ligados .

A seguir a pette é enchida com anticorpos anti-IgE marcados com enzima. Estes anticorpos ligam-se à IgE já ligada aos poços.

Depois da segunda lavagem, a pette é enchida com uma mistura de fotoreagentes que reagem com o anticorpo anti-IgE marcado com enzima para produzir luz gerada quimicamente (quimioluminiscência). A quantidade de luz emitida por cada poço é diretamente proporcional à quantidade de IgE específica do alergeno contida no soro do doente.

4 *Reagentes / Componentes*

Ensaio OPTIGEN

Conservar entre 2-8ºC durante o prazo de validade. Não congelar.

Descrição do Componente	Cada kit de 20 testes contém
Câmaras para testes A câmara pette contém uma fase sólida de poliestireno, com pequenas lentes contendo um alergeno ou mistura de alergenos.	20 pettes
Tampão de Lavagem (Concentrado) Solução que depois de diluída contém: Soro fisiológico com tampão fosfato 0,01M, Tween 20 0,1%, e azida de sódio 0,001%.	Um frasco, 50 ml
Anticorpo IgE Solução azul constituída por: Anti- IgE humana preparada em cabras e marcado enzimaticamente, soro fisiológico com tampão Fosfato 0,01M, pH 7,2, estabilizantes de proteína Proclin® 0,1% como conservante.	1 frasco, 16 ml
Fotoreagente AB Solução contém: 3-aminoftalo-hidrazida 7-15 mM (luminol) Enhancer 5-25µM e tampão de Borato 0,025M, pH 9,4	1 frasco, 8ml
Fotoreagente CD Solução contém: Laranja de etilo 0,00125M Peróxido de hidrogénio 0,002M	1 frasco, 8ml
Tampas para as pettes (superior) Tampaspretas para a parte superior das pettes	22 tampas
Tampas para as pettes (inferior) Tampas brancas para a parte inferior das placas	22 tampas

5 • *Precauções*

- O ensaio OPTIGEN destina-se a ser utilizado em diagnóstico *"in vitro"*.
- O concentrado da solução de lavagem, contém azida de sódio como conservante. Foi documentado que a azida de sódio reage com chumbo ou cobre da canalização, formando azidas metálicas potencialmente explosivas. Assim, quando se utiliza este reagente deverá ter-se o cuidado de enxaguar sempre com um volume adequado de água, para prevenir a formação das azidas metálicas no sistema de canalização.[1]
- Não utilize os componentes do kit após a data de validade, indicada em cada componente.
- Os componentes reagentes dos kits de ensaio OPTIGEN são fornecidos num conjunto (isto é, reagentes e pettes). Não misture reagentes de outras linhas de produtos, uma vez que não são compatíveis.
- Foi documentado que contaminação com lixívia, interfere com o teste.

6 *Preparação dos Reagentes*

Tampão de lavagem:

- Permitir que o concentrado do Tampão de Lavagem atinja a temperatura ambiente. Confirmar que todos os cristais de sal dissolveram. Se existirem cristais remanescentes, colocar o frasco, bem fechado, numa proveta de água morna até que todos os cristais dissolvam.
- Lavar o frasco da solução de lavagem e a tubagem com água destilada.
- Com suavidade, inverter o frasco do concentrado da solução de lavagem várias vezes para misturar.
- Deitar o conteúdo do frasco da solução de lavagem (50ml) para o frasco dispensador de 2l.
- Adicionar água destilada ou desionizada até à marca de 1000 ml.
- Misturar completamente.
- Uma vez preparado o tampão é estável durante 1 mês quando armazenado à temperatura ambiente (20-25ºC) ou refrigerado (2-8ºC).

Anticorpo:

- Permitir que o anticorpo atinja a temperatura ambiente antes de usar.
- Com suavidade inverter o frasco do anticorpo antes de usar.
- O anticorpo é estável até à data indicada no rótulo conservado sob refrigeração (2-8ºC), enquanto não for utilizado.
- Um frasco de anticorpo é suficiente para vinte (20) pettes de OPTIGEN.

Mistura de Fotoreagentes:

Preparar a Mistura de Fotoreagentes imediatamente antes da utilização.

- Permitir que os fotoreagentes AB, e CD atinjam a temperatura ambiente antes de utilizar.
- Usar uma micropipeta com pontas descartáveis, misturar **partes iguais** dos fotoreagentes AB e CD. Medir 250 µl de cada fotoreagente AB e CD, para cada pette. Medir para um recipiente descartável.
  NOTA: Para evitar a contaminação dos reagentes, utilizar uma ponta descartável nova para cada fotoreagente.
- Rodar cuidadosamente o recipiente para misturar.
- A mistura fotoreagente deve ser usada dentro de 60 minutos

  NOTA: O fotoreagente depois de misturado, deve ser usado imediatamente para obter os melhores resultados.

7 Instruções de Armazenamento

- Armazenar o kit entre 2-8ºC. Quando armazenado como indicado, os componentes podem ser usados até às datas indicadas nos rótulos cada componente.
- Não congele os componentes do kit..
- As pettes encontram-se acondicionadas com um agente exsicante, e devem ser adequadamente seladas depois de cada uso. Quando armazenadas no saco fechado entre 2-8ºC, as pettes são estáveis até à data de validade indicada no rótulo.
- Não utilizar componentes do kit se houver sinais de deterioração. Sinais de deterioração incluem um odor pouco usual, turvação e outros sinais de contaminação.

8 Colheita e Preparação das Amostras

Manipular todas as amostras dos doentes e os componentes do kit, como recomendado para qualquer amostra de sangue ou soro humano potencialmente infecioso. Siga as Precauções Universais ou outras orientações estabelecidas na instituição, sempre que manuseie amostras de doentes.[2-4]

Para o método manual, o volume mínimo de soro humano requerido por **cada teste** é o seguinte:

500 µl de soro para a pette de > 20 alergenos
300 µl de soro para a pette de ≤ 20 alergenos

Para o método semiautomático (utilizando o AP 720S), o volume mínimo de soro humano necessário por cada teste é o seguinte:
600 µl de soro para a pette de > 20 alergenos
490 µl de soro para a pette de ≤ 20 alergenos

O protocolo seguinte deve ser usado para a colheita, preparação e armazenamento do soro, para uso no teste OPTIGEN:

1. Colher uma amostra de sangue venoso para um tubo separador de soro de 10 ml ou para um tubo de tampa vermelha . O doente não necessita de estar em jejum. Não são necessárias nenhumas preparações especiais.
   NOTA: Os tubos separadores de soro (STT, serum separator tubes) contêm um material inerte que separa o soro das células quando centrifugado. A hemólise pode afetar negativamente o desempenho do ensaio OPTIGEN.
2. Inverter o tubo da colheita 3-5 vezes.
3. Identificar o tubo com o nome do doente e a data da colheita.
4. Deixe o sangue coagular no tubo original durante **2 horas** (ou até a coagulação ocorrer) à temperatura ambiente.
5. Centrifugar o sangue coagulado durante 10 a 20 minutos a 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm no tubo original.
6. Transferir o soro do tubo de centrifugação para um tubo novo de plástico, com identificação apropriada.
7. As amostras de soro podem ser armazenadas uma semana entre 2-8ºC. Para períodos mais longos, congelar as amostras a -20ºC.

   NOTA: Evitar congelar e descongelar repetidamente as amostras. Homogeneizar completamente as amostras depois de descongeladas, antes de centrifugar. Depois de retirar as amostras do local de conservação e imediatamente antes de iniciar o teste, as amostras devem ser recentrifugadas durante 10-20 minutos a 2000-3000x g ou 2500-3600 rpm.

9 Procedimento do Ensaio

Consultar o *Manual de Utilização* OPTIGEN (P/N 60501) e o Manual do Utilizador do *CLA-1 Luminometer* (Doc. Nº 0277) para obter as instruções completas sobre como realizar o ensaio pelo procedimento manual. Para instruções sobre a utilização com o equipamento semiautomático AP 720S, consulte o Manual de Instruções AP 720S (Doc. Nº. 0780) e o Guia do Painel LCD do AP 720S (Doc. Nº 0781).

Materiais Incluídos:
- Ensaio OPTIGEN (ver a secção 4, REAGENTES/COMPONENTES)

Materiais necessários mas não incluídos
- Kit do equipamento OPTIGEN, incluindo:
  - Suporte para as amostras, para até 40 pettes.
  - Depósito para o esgoto.
  - Frasco graduado de 2 l para dispensar o tampão de lavagem.
  - Recipientes descartáveis para os reagentes, 10ml.
  - Seringa de 3cc (fecho luer).
  - Pipeta de volume fixo, eletrónica ou manual (opcional).
- Proveta ou frasco graduado, de 1l para preparar o tampão de lavagem.
- Água desionizada ou destilada.
- Tubos separadores de soro ou com tampa vermelha, de 10ml ou tubos de colheita de amostras de 5 ml.
- Centrífuga com capacidade de 2000-3000 x g ou 2500-3600 rpm.
- Tubos de ensaio de plástico para preparação das amostras.
- Toalhas de papel absorvente.
- Toalhetes sem fibras.
- Sistema Luminometer CLA-1

Preparação das Pettes e das Amostras dos Doentes
1. Se a amostra de soro não tiver sido centrifugada no dia do teste, deve-se centrifugá-la imediatamente antes do uso, (ver a secção 8, Colheita e Preparação das Amostras)
2. Retirar as pettes (uma para cada doente) do saco de plástico.
3. Fechar o saco e colocar de novo no frigorífico.
4. Com as janelas para baixo, rotular cada pette com a identificação do doente.

NOTA: Conservar o kit entre 2-8ºC, quando não está em uso.

Procedimento

A. Preparar o tampão de lavagem conforme as instruções da secção 6. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

B. Rehidratar as Pettes

1. Preencher o tubo da frasco dispensador com tampão de lavagem, até todas as bolhas serem removidas.
2. Fixar o tubo da solução de lavagem à parte superior da primeira pette.
3. Lavar cada pette uma vez, com 10ml solução premindo uma vez com força moderada a bomba do dispensador.
   NOTA: Deixar cada pette escoar completamente, antes de continuar para o passo seguinte.

C. Encher a pette com soro

1. Bater a ponta da pette no papel absorvente, para remover qualquer líquido residual.
2. Fixar a seringa de 3cc à parte superior da pipeta.
3. Inserir a parte inferior da pette no frasco-ampola com o soro do doente . **NOTA: Evitar qualquer precipitação e/ou camada lipídica.**
4. Puxar **LENTAMENTE** o êmbolo da seringa para aspirar o soro até cobrir completamente a última janela. **Verificar que não existem bolhas de ar**.
   NOTA: Confirmar que o soro cobre completamente a janela do controlo positivo.

D. Tapar e incubar as pipetas

1. Com a seringa ainda fixa à parte superior da pette, colocar a tampa branca na parte inferior da pette.
2. Retirar a seringa e colocar a tampa preta na parte superior da pette.
   Nota: As tampas devem ser empurradas completamente para evitar derrames.
3. Colocar as pettes com soro em posição vertical no suporte (*workstation*).
4. Incubar à temperatura ambiente durante **2 horas +/-10 minutos**.

E. Escoar o soro

1. Retirar a tampa inferior de cada pette e colocar a pette novamente no suporte.
2. Retirar a tampa superior de cada pette e deixar o soro escoar para o depósito de esgoto.
3. Enxugar as tampas e guardar para os passos seguintes.

F. Lavagem das pettes

1. Preencher o tubo da garrafa de lavagem com solução, até todas as bolhas de ar saírem.
2. Fixar o tubo da solução de lavagem à parte superior da primeira pette.
3. Lavar cada pette com 10ml, premindo uma vez a bomba do dispensador (utilizar força moderada).
   NOTA: Permitir o escoamento completo de cada pette antes de continuar para o próximo passo.

G. Encher pettes com anticorpo

1. Deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente.
2. Agitar suavemente o anticorpo antes de o usar.
3. Para evitar contaminação do anticorpo, transferir um pouco de anticorpo para um copo descartável ou outro recipiente.
4. Bater a ponta da pette em papel absorvente, para remover qualquer solução de lavagem residual.
5. Fixar a seringa de 3cc à parte superior da pette.
6. Colocar a parte inferior da pette no recipiente descartável com o anticorpo.
7. **Lentamente** puxe o êmbolo da seringa para aspirar o anticorpo, até cobrir completamente a última janela.
   NOTA: Confirmar que a última janela está completamente coberta de anticorpo. Isto evita a formação de bolhas que podem interferir com os resultados do teste.

H. Tapar e incubar as pettes

1. Com a seringa ainda fixa à parte superior da pette, colocar a tampa branca na parte inferior da pette.
2. Retirar a seringa e colocar a borracha preta na parte superior da pette.
3. Colocar as pettes na posição vertical no suporte (workstation). Incubar durante **2 horas +/-10 minutos** à temperatura ambiente (marcar o tempo de incubação).
   NOTA: Manter o kit entre 2-8ºC quando não está em uso.

I. Escoar o anticorpo

1. Retirar a tampa inferior de cada pette e colocar novamente no suporte.
2. Retirar a tampa superior de cada pette e deixar escoar para o depósito do esgoto. Anotar na Folha de Planeamento a hora a que terminou a incubação.
3. Enxugar as tampas e guardar, para os passos seguintes.

J. Lavagem das pettes

1. Preencher o tubo do frasco do tampão de lavagem com solução até todas as bolhas de ar saírem.
2. Fixar o tubo da solução de lavagem à parte superior da primeira pette.
3. Lavar cada pette com 10ml de tampão de lavagem, premindo uma vez a bomba dispensadora (utilize força moderada).
   NOTA: Permitir o escoamento completo de cada pette antes de continuar para o próximo passo.

K. Preparar a Mistura dos Fotoreagentes

1. Preparar a mistura dos Fotoreagentes como indicado na Secção 6, Preparação dos Reagentes. .
   NOTA: Permitir que os fotoreagentes atinjam a temperatura ambiente, antes de usar.

NOTA: O fotoreagente depois de misturado deve ser usado imediatamente, para obter os melhores resultados.

L. Encher as Pettes com a Mistura dos Fotorreagentes

1. Bater a ponta da pette em papel absorvente, para remover qualquer solução de lavagem residual.
2. Fixar a seringa à parte superior da pette.
3. Inserir a parte inferior da pette no recipiente com a mistura do fotoreagente.
4. Puxe **LENTAMENTE** o êmbolo da seringa para aspirar o fotoreagente até encher a pipeta, completamente.
   NOTA: Confirmar que o fotoreagente cobre completamente a última janela.

M. Colocar as Tampas

1. Com a seringa ainda fixa à parte superior da pette, coloque a tampa branca na parte inferior da pette.
2. Retire a seringa e coloque a tampa preta.
3. Verificar que não existe líquido derramado.
4. Limpar da parte externa das pettes qualquer resto de fotoreagente com um toalhete sem fibras limpo e húmido.

N. Incubar as pettes <u>durante</u> 10 minutos

1. Incubar as câmaras de teste durante 10 minutos antes de proceder à leitura no Luminometer. É necessário proceder à leitura de todas as câmaras de teste nos 60 minutos segintes à adição do fotorreagente.
2. Ver a secção da operação do Luminometer na parte "Leitura" para mais informação.

O. Fazer a Leitura no CLA-1 Luminometer

NOTA: Nunca abrir em circunstância alguma o CLA-1 Luminometer. Se o abrir, a garantia do instrumento é anulada, o CLA-1 Luminometer fica inoperacional e necessita ser ajustado na fabrica, e o operador fica sujeito a lesões pessoais graves.

1. Colocar a pette na cassete.
   a. Colocar a pette na cassete pela ordem indicada na Folha de Planeamento OPTIGEN.
   b. Inserir completamente a pette com a tampa preta primeiro e com as janelas para cima, no tabuleiro de cassete da pette.
   c. Verificar que não existe líquido entornado. Limpar com papel absorvente sem fibras húmido.
2. Inserir a cassete no CLA-1 Luminometer.
   a. Carregar uma vez na tecla OPEN/CLOSE no CLA-1 Luminometer para abrir a porta de transporte.
   b. Segure na asa da cassete e introduza a mesma na ranhura de transporte, até ouvir um "clique".
   c. Carregar novamente na tecla OPEN/CLOSE. A cassete é automaticamente transportada para o interior do CLA-1 Luminometer e a porta de transporte fechada.
3. Programar a Lista de Trabalho no CLA-1 Luminometer
   a. Identificar o painel da pette que está em cada uma das 5 posições utilizando a Folha de Planeamento Luminometer como guia.

b. Carregar nas teclas UP ou DOWN no CLA-1 Luminometer para selecionar o painel.
c. Carregar na tecla ENTER para confirmar a seleção do painel para essa posição.
d. Repetir os passos acima até que todas as pettes nas outras posições da cassete do CLA-1 Luminometer tenham sido adequadamente programadas.

4. Fazer a Leitura e Imprimir os Resultados
   a. Depois de programar todas as 5 posições da cassete, no ecrã do CLA-1 Luminometer aparece a lista programada correspondente ("LOAD LIST"). Se os painéis estiverem corretos, confirmar com a tecla "ENTER" e dá-se inicio à leitura.
   b. O CLA-1 Luminometer imprime os resultados depois de aproximadamente 1 minuto.
   c. Escrever a identificação do doente nos resultados impressos e anexar os resultados aos Registos do Teste do CLA-1 Luminometer.

10 Controlo de Qualidade

A. Poços do Controlo Interno

Cada pette contém um controlo Positivo do procedimento e um controlo negativo (branco). Estes controlos funcionam como indicadores internos em cada pette.

Controlo positivo do procedimento: comprova o desempenho dos reagentes do kit. Este tem que produzir uma leitura igual ou superior a 243 LUs no CLA-1 Luminometer.

Controlo negativo (branco): Compensa qualquer ligação inespecífica de IgE. Este tem que produzir uma leitura igual ou inferior a 69 LUs no CLA-1 Luminometer.

Resultados Inaceitáveis dos Controlos Internos: se o resultado de qualquer controlo interno não estiver dentro dos limites definidos acima, fazer o seguinte:

- Reposicionar as pettes na cassete (verificar que está bem colocada) e repetir a leitura.
- Se os resultados se mantiverem inaceitáveis, consulte as Secções 6 e 7.

B. Controles de Soros IgE Positivo e Negativo

Hitachi Chemical Diagnostics recomenda que cada kit de um novo lote de reagentes e pettes utilizadas no ensaio OPTIGEN para determinação de IgE específica de alergeno, seja testado com dois níveis de controles para IgE: soro de controlo positivo e soro de controlo negativo.

As Agências Reguladoras podem requerer o uso mais frequente de controlos positivos e negativos. Confirmar com agência reguladora aplicável.

Os soros de controlo positivo e negativo de IgE para o OPTIGEN estão disponíveis para compra na Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. e são enviados com a folha de resultados esperados. O soro de controlo é enviado congelado e deve permanecer congelado até a altura do uso.

As especificações dos controlos internos e dos controlos de soros devem ser aprovados para que os resultados possam ser registrados em laudos.

11 Resultados

O Luminometro CLA-1 mede a quantia de luz emitida pelos alergenos nas pettes. O Luminometer mede a emissão em unidades de luminescência (LU). Para calcular a resposta da IgE dos doentes, o instrumento automaticamente subtrai o nível de emissão do controlo negativo ao nível de emissão de cada alergeno. São atribuídas classes CLA de 0 a 4 de acordo com a quantidade de luz emitida por cada alergeno na pette. Estes valores constituem o sistema de pontuação de classes de alergia CLA do ensaio de IgE específica OPTIGEN. As quantidades de IgE associadas aos valores das Classes CLA e às leituras do aparelho são apresentadas na seguinte tabela.

Classe CLA Específica	LUs líquidos	Níveis de anticorpos detetados Concentração de IgE específica para o alergeno
4	>242	Níveis de anticorpos muito elevados
3	143-242	Níveis de anticorpos elevados
2	66-142	Níveis de anticorpos moderados
1	27-65	Níveis de anticorpos baixos
0	0-26	Anticorpos não detetados

Os valores da classe 1 ou superior representam um incremento progressivo nas concentrações de anticorpos específicos de alergenos. A classe 0 representa uma ausência ou um nível não detetável de anticorpos específicos de alergenos.

12 Limitações do Procedimento

- Os resultados medidos podem variar em +/- 1 classe. Resultados positivos baixos devem ser interpretados no contexto da avaliação clínica efetuada.
- Soro hemolisado ou lipémico pode afetar o desempenho do ensaio OPTIGEN.
- O diagnóstico clínico definitivo e/ou regimes de dosagem para imunoterapia não devem ser fundamentados somente nos resultados de um único teste de diagnóstico, devendo ser feitos pelo médico depois de avaliar todos os dados clínicos e laboratoriais.
- O Ensaio OPTIGEN fornece resultados semiquantitativos. O método não tem nenhum padrão absoluto e os seus níveis de classificação foram definidos arbitrariamente.
- Como a capacidade que ligação do anticorpo IgE especifico pode variar de alergeno para alergeno, a classificação semelhante de alergenos diferentes, não implica necessariamente equivalência clínica.
- Nos testes para alergia alimentar, pode-se não detetar anticorpos circulantes de IgE se eles são dirigidos a formas alteradas dos alergenos (como cozinhados, processados, ou digeridos) e as formas alteradas não estão presentes na mesma forma que esses alergenos neste teste. Resultados de falso positivo nos testes efetuados as pessoas com alergias de alimentos podem levar a uma restrição dietética inadequada, enquanto resultados de falso negativos a pessoas sensíveis, podem resultar em reações anafiláticas de severidade variada.
- Nos testes para alergias de agentes inalados, os resultados de falsos positivos podem resultar na prescrição de medicamento impróprio para essas pessoas. Resultados de falsos negativos podem resultar na falta de tratamento médico adequado.
- Se os valores de IgE total forem iguais ou superiores a 2500 UI/ml, a resposta dos alergenos de nível baixo deve ser interpretada com precaução.
- Quando o procedimento do ensaio é levado até ao fim de acordo com as instruções do produto e a total concordância com os bons procedimentos do controlo de qualidade, obter-se-ão resultados fidedignos e reprodutíveis.
- Foi verificado que a contaminação com lixívia interfere com o teste. Material do laboratório descontaminado com lixívia deve ser enxaguado completamente com água destilada ou desionizada.
  NOTA: O uso de soluções com base alcoólica, para desinfetar o suporte pode provocar a abertura de rachas no plástico e inutilização precoce do suporte.

13 Valores esperados

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios limites de normalidade para a população em questão. Foi estabelecido três desvios-padrão acima do valor médio da população normal como o limiar de corte entre resultados positivos e negativos

14 Características do Desempenho do Procedimento Padrão

A. Precisão [5]

Intraensaio: Foram analisadas dez repetições de amostras de soro em um lote. Os coeficientes de variação médios dos resultados de todos os alergenos testados foram calculados por classe:.

Classe	CV %
1	31
2	16
3	16
4	5

Interensaios: Foram analisadass dez repetições de um soro em cinco dias diferentes. Os coeficientes de variação médios dos resultados de todos os alergenos testados foram claculados por classe:

Classe	CV %
1	25
2	15
3	9
4	1

B. Limite de Deteção [5]
O limite de deteção dos ensaios varia entre 12-26 LUs e depende do alergeno.

C. Especificidade Analítica [5]
Não existem reações cruzadas com as imunoglobulinas IgA, IgM, IgG, ou IgD a níveis normais fisiológicos no soro humano.

D. Comparação de Métodos "*In Vitro*" [5]
Em média, a concordância (calculada como eficiência) entre cada alergeno CLA e ensaios alternativos "*in vitro*" é de aproximadamente 90%, com um intervalo de concordâncias de 83% a 98%.

Nota: Para a grande maioria dos alergenos clinicamente significativos, não existem referências de alergenos para comparação entre métodos.

15 *Bibliografia*

1. Safety Management No. CDC-22, *Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts.* Atlanta, GA: Centers for Disease Control, April 30, 1976.
2. U.S. Dept. of Health and Human Services. Centers for Disease Control. Guidelines For Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus to Health-Care and Public-Safety Workers. February 1989.
3. Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories.* 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
4. Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
5. Dados disponíveis a pedido.

Para assistência técnica, contacte Hitachi Chemical Diagnostics.
Fora dos Estados Unidos, contactar o seu representante local de Hitachi Chemical Diagnstics.

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
630 Clyde Court
Mountain View, California 94043
Tel. (650) 961-5501
Fax (650) 969-2745

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
Reino Unido
Tel. +44 (0) 1628 585 590
Fax. +44 (0) 1628 585 594